

ÜBER DAS VORKOMMEN IRREGULÄRER
ANTI-G_m- UND ANTI-InV-ANTIKÖRPER

Elfi Gerheiser

1979



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551927_0083

Aus dem Institut der Rechtsmedizin der Universität München

Direktor: Prof. Dr. W. Spann

ÜBER DAS VORKOMMEN IRREGULÄRER ANTI-Gm-
UND ANTI-InV-ANTIKÖRPER

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Elfi Gerheiser

aus
Feldkirchen

1976

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin
der Universität München

Berichterstatter: Prof.Dr.med.J.Jungwirth

Mitberichterstatter:

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 18.12.1979



ÜBER DAS VORKOMMEN IRREGULÄRER ANTI-Gm- UND ANTI-InV-ANTIKÖRPER

	Seite
1 Einführung	1
1.1 Zur Thematik der Untersuchung	1
2 Hauptteil	2
2.1 Das Gm- und InV-System	2
2.1.1 Immunglobuline	2
2.1.2 Lokalisation von Gm- und InV-Merkmalen	5
2.1.3 Entdeckung des Gm-Systems	6
2.1.4 Monoklonale Immunglobuline	7
2.1.5 Verteilung und Vererbung	8
2.1.6 Das InV-System	11
2.1.7 Anti-Gm-Antikörper	13
2.1.8 Anti-InV-Antikörper	14
2.2 Methode und Untersuchungsart	15
2.3 Ergebnisse und Diskussion	19
2.3.1 Anzahl der positiven Seren nach Spezifität und Titer	19
2.3.2 Polyvalente Seren	23
2.3.3 Monovalente Seren	28
2.3.4 Mutter-Kind-Unverträglichkeiten	31
2.3.5 Erläuterungen zur Reaktionstemperatur	33
3 Zusammenfassung	37
Summary	38
Literatur	39
Lebenslauf	44

1 Einführung

1.1 Zur Thematik der Untersuchung

"Gm" und "InV" Merkmale sind antigene Eigenschaften mit differenter erblicher Prägung im Bereich der Gamma- oder Immunglobuline.

Innerhalb der beiden Systeme haben bisher Gm(1), Gm(2) und InV₁ forensische Bedeutung gefunden. Bei der Vaterschaftsbegutachtung ist der klassische Ausschluß dann gegeben, wenn das Kind merkmalspositiv in einem oder mehreren der oben genannten Merkmale ist, die Kindesmutter und der fragliche Vater dagegen merkmalsnegativ. Bei der üblichen serologischen Bestimmungsmethode lassen sich bei etlichen Seren die Allotypen erst nach Absorption, Verdünnung, Erhitzen oder Dialyse nachweisen.

Ursache dieser Erscheinung ist das Vorliegen von Anti-Allotyp-Antikörpern, die die Reaktion stören.

Die vorliegende Arbeit untersucht in Bezug auf die einzelnen Spezifitäten die Häufigkeit und Eigenschaften dieser Anti-Allotypen sowie die möglichen Ursachen ihres Auftretens.

2 Hauptteil

2.1 Das Gm- und InV-System

2.1.1 Immunglobuline

Das Gm-System und die davon unabhängigen InV-Merkmale sind Bestandteile antigener Strukturen, die einen Teil der Immunglobuline formen.

Die verschiedenen Globuline werden zunächst nach den Klassen IgA, IgD, IgE, IgG und IgM unterschieden. Diese Klassen werden durch Strukturen ihrer schweren Kette bestimmt, für IgA heißt sie Alpha-, für IgD Delta-Kette, usw. Die Differenzierung erfolgte aufgrund des unterschiedlichen Molekulargewichts, Kohlenhydratanteils und der elektrophoretischen Beweglichkeit, also der Wanderungsgeschwindigkeit im elektrischen Feld. Mit Hilfe der Immundiffusion kann IgG in weitere vier Subklassen eingeteilt werden, die durch die verschiedenen Antigendeterminanten auf dem Fc-Teil (für gamma G_1 , gamma G_2) und auf dem Fd-Teil (für gamma G_3) der schweren Kette bedingt sind /16/.

Zur besseren Verständlichkeit sei ein Modell eines Antikörpers aufgezeigt (Abb. 1).

Die weiteren minimalen Unterschiede, die sich auf den Gammaketten nachweisen lassen, sind genetisch verankert und werden deshalb als Gm (genetic marker) bezeichnet. Bisher wurden nur auf den ersten drei Subklassen des IgG Gm-Faktoren nachgewiesen. 23 verschiedene sind bereits bekannt:

Subklassen	Gm-Merkmale
IgG 1	1, 2, 3, 4, 7, 8, 9, 17, 18, 20, 22
IgG 2	23
IgG 3	5, 6, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 19, 21
IgG 4	---

Die bei den schweren Ketten gefundenen Polymorphismen treten bei den leichten Ketten nicht in gleichem Maß in Erscheinung. Es sind nur zwei Iso-
typen bekannt, die als kappa und lambda bezeichnet werden. Diese kommen bei allen Immunglobulin-Klassen vor, so daß es IgG k und IgG l, IgA k, und IgA l, usw. gibt.

Allotypen, entsprechend den Gm-Faktoren bei den schweren Ketten, kommen auch auf den leichten Ketten vor und werden hier InV genannt. Sie sind ebenso wie die Gm-Faktoren genetisch bedingt und wurden bisher nur auf der kappa-Kette gefunden. In einem Normalserum findet man kappa-Ketten etwa doppelt so häufig wie lambda-Ketten.

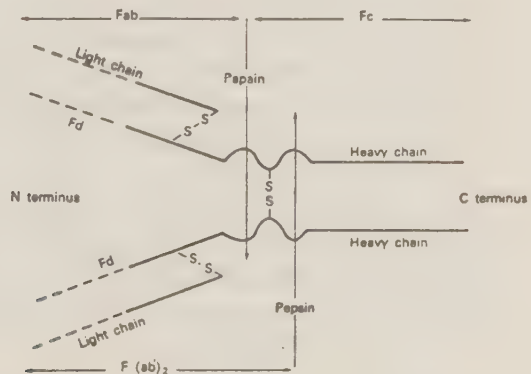


Abb. 1 Antikörpermodell nach Cohen & Milstein.
Nature 214, 449 (1967)

Den iso- und allotypischen, auf den konstanten Abschnitten der Kette lokalisierten Varianten stehen die Idiotypen gegenüber. Sie sind an die variablen Abschnitte der Ketten gebunden und für die spezifische Antikörperabwehr verantwortlich.

Die molekularen und im Grunde genetischen Prozesse, die den variablen Anteil der Ketten und somit die Vielzahl der spezifischen Antikörperbildung kontrollieren, sind noch wenig bekannt. Die Theorien und Modelle, die bisher entwickelt wurden, wirken nicht klärend auf den Mechanismus der spezifischen Antikörperproduktion. Die teilweise vertretene Ansicht der vorgegebenen Antikörperreaktion auf antigene Reize würde die Existenz vieler zusätzlicher Gene erfordern.

Den meisten Theorien liegt die Annahme zugrunde, daß die N-terminale Umwandlungsfähigkeit nicht ererbt wird, sondern ein somatisches Geschehen darstellt, das sich während der Zelldifferenzierung ergibt.

Eine etwas genauere Kenntnis hat man von der Entwicklung des gleichbleibenden Anteils des Moleküls, der durch Gm- und InV-Merkmale charakterisiert ist, also die allotypischen Spezifitäten. In jeder Plasmazelle ist zumindest ein Gen für die Kodierung des konstanten Anteils verantwortlich. Die langen und kurzen Ketten werden getrennt hergestellt, nach der Fertigstellung beider Ketten (die Synthese erfolgt in toto) werden sie gekoppelt, und, nachdem der Kohlenhydratanteil zugefügt ist, sezerniert.

2.1.2 Lokalisation von Gm- und InV-Merkmalen

Die verschiedenen Gm-Gruppen, wie man sie früher nannte, sitzen auf der schweren Kette des IgG-Moleküls /23, 26, 27/. Die von mir untersuchten Gm-Faktoren (1), (2) und (4) gehören zur Unterklasse IgG 1, die Faktoren (5), (10) und (21) zu IgG 3 /29/. Die Antigene sind, außer Gm (4) auf dem fd-Fragment lokalisiert. Die Gm-Faktoren werden heute etwa in chronologischer Reihenfolge ihrer Entdeckung durchnummeriert:

Nummer	Originalname	Entdecker
Gm(1)	Gm(a)	Grubb & Laurell (1956)
Gm(2)	Gm(x)	Harboe & Lundeville (1959)
Gm(4)	Gm(f)	Gold et al. (1965)
Gm(5)	Gm(b=b ¹)	Harboe (1959)
Gm(10)	Gm(alpha)	Ropartz et al. (1963)
Gm(21)	Gm(g)	Natvig (1966)
InV(1)	Gm(l)	Ropartz et al. (1964)

Die InV-Eigenschaft konnte auf dem kappa-Typ der leichten Kette des IgG und auch des IgM und IgA nachgewiesen werden.

2.1.3 Entdeckung des Gm-Systems

Rh-positive Erythrozyten der Blutgruppe O, die mit inkompletten Rh-Antikörpern beladen sind, können durch Coombs-Seren oder Seren von Patienten mit rheumatoider Arthritis agglutiniert werden.

1956 entdeckte Grubb, daß manche menschliche Seren dazu geeignet sind, diese agglutinationsähnliche Präzipitation zu hemmen, andere nicht /17/. Entsprechend nannte er Seren, die den Hemmkörper enthielten, Gm positiv; Seren ohne Hemmkörper Gm negativ. Weiter fanden Grubb/17/, Grubb & Laurell /18/, daß in etwa 60 % der Seren gesunder Individuen die hemmende Wirkung auf die Agglutination nachzuweisen ist. Da man den Hemmfaktor in der Gammaglobulinfraktion des Serums nachweisen konnte, wurde er als Gm-Faktor bezeichnet.

Die indirekte Methode, die zur Entdeckung des Gm-Systems führte, ist heute noch gebräuchlich bei der Gm-Bestimmung und wird deshalb ausführlicher im praktischen Teil besprochen. Zum Nachweis der Gm-Eigenschaft (des Hemmfaktors) muß die gleiche Eigenschaft erst in das System eingebracht werden: durch Sensibilisierung von Erythrozyten mit inkompletten Rh-Antikörpern, die "Gm"-haltig sind.

Grubbs Entdeckung brachte eine Erklärung für den lange vorher bekannten Unterschied zwischen homologen Serumproteinen bei Individuen derselben Spezies /18, 30/.

2.1.4 Monoklonale Immunglobuline

Bevölkerungs- und familiengenetische Untersuchungen ergaben für die Gm-Substanzen gewisse Ähnlichkeiten mit dem Rh-System. Die Phänotypen beider wiesen auf nah aneinandergeschaltete Gene hin. Im Fall der Gm-Gruppen hat man ein zusätzliches Mittel, um die chemische Struktur und folglich die Genetik besser zu verstehen: monoklonale Proteine, die im Serum Myelomakranker (IgA, IgD und IgG) oder Makroglobulin-kranker (IgM) vorkommen. Ebenso erhält man homogene leichte Ketten durch Isolieren von Bence-Jones-Protein. Die Krankheit Myelomatosis wird durch die pathologische Proliferation eines einzelnen Lymphzellklons charakterisiert. Da ein Paar der autosomalen Allele in seiner Aktivität unterdrückt wird, ist das Myelomaprotein Ausdruck eines einzelnen haploiden Genkomplexes. So wurde es möglich, durch entsprechende chemische Analysen herauszufinden, auf welcher IgG-Unterklasse und in welcher Position der schweren Kette die einzelnen Gm-Merkmale lokalisiert sind. So fand Giblett /13/ Gm(1) und (2) auf dem fc-Fragment des IgG 1, Gm(3) und (17) auf dem fd-Fragment des IgG 1 Moleküls, Gm(5), (6), (11), (13), (14), (15), (16) den b und c Komplex auf dem fc-Fragment des IgG 3 und Gm(23) auf dem fc von IgG 2.

Die Gm-Faktoren wurden bisher nur im 7 s Gammaglobulin gefunden, während InV in allen 4 Typen des Proteins, also in 7 s und 19 s Gammaglobulin, beta_{2a} Globulin und im Bence-Jones-Protein nachzuweisen war/21, 24/.

2.1.5 Verteilung und Vererbung

Grubb war der Ansicht, daß die Gm- und InV-Merkmale dominant vererbt würden. Familienstudien, die über mehrere Jahre und in weiten Bevölkerungsschichten durchgeführt wurden, bewiesen den kodominanten Erbgang. Der Gm-Polymorphismus ist genetisch recht kompliziert aufgebaut, gewisse Analogien zum Rhesus-System sind erkennbar. Der bestimmende Genort stellt entweder einen einheitlichen Genkomplex dar oder die Genorte liegen sehr nahe beieinander. Beide Ansichten werden heute vertreten /5/.

Wie wenig man über die Antikörperbildung und ihre Kontrolle weiß, wurde bereits oben erwähnt, ebenso wenig ist der Mechanismus und Vorgang der Weitergabe bekannt. Fest stehen nachfolgende Befunde, die von mehreren Untersuchern immer wieder bestätigt wurden und die inzwischen allgemein anerkannt werden. Sie finden heute für populationsgenetische und gerichtsmedizinische Zwecke Anwendung /14, 20/:

1. Die Weitergabe der Gm- und InV-Eigenschaft auf die Nachkommen;
2. Gm-Substanzen kommen meist, wenn sie vorhanden sind, in bestimmten Kombinationen vor;
3. Diese Kombinationen sind von Population zu Population verschieden. Bisher wurde kein anderer Polymorphismus gefunden, der so charakteristisch für einzelne Bevölkerungsgruppen ist.

Zu 1) Die Vererbung der Gm-Eigenschaften folgt einem kodominanten Erbgang. Diese Erkenntnis findet oft bei Vaterschaftsgutachten Anwendung. Am Beispiel von Gm(1) und Gm(2) sollen die möglichen Geno- und Phänotypen sowie deren Frequenzen aufgezeigt werden:

Phänotyp	Genotyp	Frequenz
Gm(1)+, Gm(2)+	Gm ^{1,2} , Gm ^{1,2} oder Gm ^{1,2} , Gm ¹ oder Gm ^{1,2} , Gm	ca. 9 %
Gm(1)+, Gm(2)-	Gm ¹ , Gm ¹ oder Gm ¹ , Gm	ca. 23 %
Gm(1)-, Gm(2)-	Gm, Gm	ca. 68 %

Tabelle aus: W. Schwerd: Lehrbuch der Rechtsmedizin,
S.141 (1976)

Das als Gm bezeichnete Gen entspricht wahrscheinlich dem 1959 von Harboe gefundenen Gm^b-Faktor, der sich jedoch als nicht einheitliche Substanz erwiesen hat.

An dieser Stelle sei darauf hingewiesen, daß nicht alle Gm-Merkmale, die man im Labor nachweist, auch dem Genotyp des Probanden entsprechen müssen. Personen, die innerhalb der letzten drei Monate vor der Bestimmung ihrer Allotypen eine Bluttransfusion oder Gammaglobulin-Injektionen erhielten, können zur Zeit der Bestimmung noch den Gm-Phänotyp des Spenders aufweisen.

Auf diese Fehlbestimmung durch "Leih-Antigene" ist auch bei jungen Säuglingen zu achten, bei denen manchmal die eigenen Gm-Merkmale noch nicht ausgeprägt sind, während die Merkmale der Mutter, die auf den Feiten in utero übertragen wurden, noch immer nachweisbar sind.

Zu 2) Das Merkmal Gm(1) wird vorwiegend mit Gm(2), das Merkmal Gm(4) fast immer mit Gm(5) gemeinsam vererbt. Für eventuelle Rekombinationen von Gm(1) und Gm(5) oder Gm(4) und Gm(21) ist crossing-over verantwortlich (Häufigkeit in Deutschland 3 - 4 %). Gm(2) tritt isoliert nur sehr selten auf, Gm(1) dagegen häufig.

Zu 3) Die Kombination Gm(5)+ und Gm(4)- kommt bei der schwarzen Bevölkerung häufig vor, während Weiße entweder Gm(5)+ und Gm(4)+ oder Gm(5)- und Gm(4)- sind. Gm(1) und (4) ist bei Chinesen oft kombiniert, dagegen bei Europäern meist getrennt vorhanden.

Innerhalb der schwarzen Bevölkerung fand man Gm(like), ein Faktor, der in der weißen Bevölkerung nur mit einer Häufigkeit von einem Promille gefunden wurde /35/.

Gm(1) und Gm(5) werden bei der europäischen Bevölkerung fast nie zusammen angetroffen, während sie bei afrikanischen Negern immer als Einheit vererbt werden. Die bei uns seltene Kombination von Gm(1) mit Gm(5) hat man sich lange Zeit durch verschiedene Allele, also die antithetische Beziehung zwischen beiden, erklärt. Kunkel, Allen, Martensson & Grubb haben dann später hypothetisch behauptet, Gm(4) sei das wahre Allel von Gm(1) und Gm(5) nehme nur einen benachbarten Genort ein /24/.

Gm(1) wurde innerhalb Europas im Hinblick auf ein geographisches Nord-Süd-Gefälle untersucht. Tatsächlich ist es im Norden durchschnittlich häufiger vertreten als im Süden.

Diese populationsabhängigen Polymorphismen lassen keinen Schluß auf die Lage der Genorte, noch die Anzahl der Gene zu, die die vier Gammaketten kontrollieren /25/.

2.1.6 Das InV-System

1961 entdeckten Ropartz, Rivat & Lenoir das InV-System /36/. Es wurde wegen seiner Eigenschaft, die Erythrozyten-Agglutination zu hemmen, (*propriété inhibitrice*) und unter Verwendung der Initialen des ersten entdeckten Antikörperträgers als InV-System bezeichnet.

Das InV-Merkmal konnte bisher nur auf dem kappa-Typ der leichten Kette nachgewiesen werden und wird deshalb (im Gegensatz zu Gm-Merkmalen) im Bence-Jones-Protein, vollständigen Immunglobulinen und in daraus entstandenen Fab-Fragmenten gefunden. Die Gm-Allotypie konnte man bisher nur auf IgG nachweisen, InV hingegen auch auf IgM und IgA. Die kappa-Kette besteht wie lambda aus einer Folge von ungefähr 214 Aminosäuren, wovon 107 am carboxyterminalen Ende im wesentlichen unveränderbar sind, während Positionen am aminoterminalen Ende variabel durch verschiedene Aminosäuren besetzt werden können /6/. Der Austausch innerhalb des N-terminalen Teils findet vor allem in bestimmten Positionen statt.

In diesem Bereich des Antikörper-Moleküls wird auch das morphologische Substrat für den Unterschied zwischen InV(1) und (2) vermutet. Lediglich für InV(3)

gilt als erwiesen: am carboxyterminalen Ende der kappa-Kette befindet sich eine unterschiedliche Aminosäure in Position 191. Die Aminosäuresequenzanalyse ergab für InV(1) und (2) Leucin, für den Allotyp InV(3) Valin /21, 26/ (s. Abb. 2).

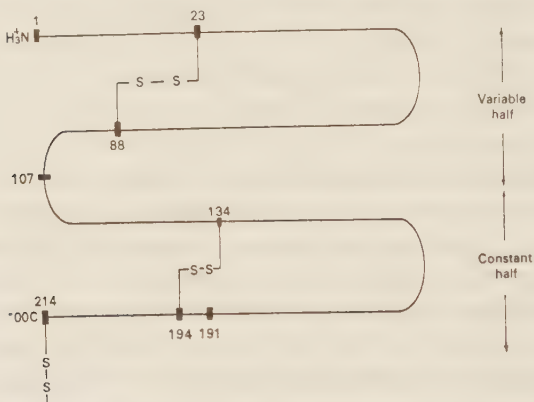


Abb. 2 kappa-Typ der leichten Kette mit der variablen und konstanten Hälfte; am carboxyterminalen Ende die SS-Brücke zur schweren Kette und die markierte Stelle 191, die mit der InV-Allo- typie nach Aminosäuresubstitution in Verbin- dung steht. Aus: Cohen & Milstein (1967)

Die InV-Eigenschaft wird unabhängig von Gm vererbt. Man nimmt an, daß die Allotypen durch Allele auf einem einzigen Genort kontrolliert werden.

Für bevölkerungsgenetische Untersuchungen eignen sich die InV-Gruppen weit weniger gut als das Gm-System. Von großem Nutzen sind sie jedoch bei der Erstellung von Vaterschaftsbegutachtungen.

2.1.7 Anti-Gm-Antikörper

Der Versuch von Grubb (1956) führte nicht nur zur Entdeckung des Gm-Systems. Grubb hatte auch gleichzeitig ein Serum gefunden, das im Leerversuch agglutinierte. Es mußte also einen Antikörper gegen die Gm-Substanz enthalten. Wie er feststellte, handelte es sich um ein Rheumatikerserum.

Seren, die Anti-Gm enthalten, fand man inzwischen in mehreren Fällen:

- bei Patienten mit rheumatoider Arthritis und bestimmten anderen Krankheiten, Raggs genannt. (rheumatoid agglutinating serum). Raggs haben gewöhnlich einen hohen Titer, manchmal Prozonen und sind aus mehreren Spezifitäten zusammengesetzt.
- bei Personen ohne erkennbare Krankheit, Snaggs genannt (franz. serum agglutinant normaux). Snaggs sind meist nicht so hochtitrig wie Raggs, haben keine Prozonen und sind häufig monospezifisch.
- infolge Bluttransfusionen oder Gammaglobulininjektionen
- bei Müttern, die Antikörper gegen die kindlichen Allotypen bildeten /32/
- ebenso bei Kindern, die ihren Antigen-Stimulus über mütterliches IgG in utero oder kurz nach der Geburt bekommen haben /2,3/
- bei Tieren, die mit menschlichem Serum injiziert wurden /1,22/

Anti-Gm-Antikörper gehören meist der IgM-Fraktion an. Es wurde aber auch in IgG und IgA Anti-Gm-Aktivität gefunden /8,27/. Seren von acht Rhesus-negativen

Müttern, die Anti D Gammaglobulin zur Immunisierungsprophylaxe erhalten hatten und daraufhin Anti-Gm-Antikörper bildeten, wurden auf ihre Zugehörigkeit zur 19 s oder 7 s Fraktion untersucht. Alle Seren zeigten in der 19 s Fraktion Gm-Antikörper-Aktivität, nur eines in der 7 s Fraktion /33/.

Das Auftreten von Anti-Gm-Antikörpern ist nach vorausgegangenem antigenen Stimulus (z.B. Gammaglobulintransfusion s.o.) erklärlich. Unbekannt ist hingegen die Ätiologie bei Snaggs und Raggs. Ein Versuch von Hess und Büttler /22/ stützt die Annahme der Auto-Antikörper-Natur der Anti-Gm-Substanz. Sie immunisierten Rhesusaffen mit menschlichem Gammaglobulin und erhielten Hetero-Antikörper mit verschiedenen Anti-Gm-Spezifitäten.

Da gamma G 1 Moleküle im normalen Serum ca. sechsmal so oft vorkommen wie gamma G 3, kann man Gm(1) und Gm(3) häufiger finden als Gm(5). Zusätzlich ist Gm(1) ein potentes Antigen, so daß Anti Gm(1) am häufigsten vorkommt /13/.

2.1.8 Anti-InV-Antikörper

Alepa und Steinberg /1/ zeigten in ihrem Versuch, daß, zumindest im Affenorganismus, InV-Merkmale schwächer antigen wirksam sind als Gm-Allotypen. Humanes Gammaglobulin, das Affen injiziert wurde, veranlaßte keine Anti-InV-Produktion.

Ein weiterer Unterschied zu Anti-Gm-Allotypen ist die fehlende Beziehung zu einem bestimmten Krankheitsbild, wie sie ja im Fall der Anti-Gm-Merkmale zu deren Entdeckung führte. Anti-InV kommt auch im Serum von Rheumatikern nicht häufiger vor als im Normalserum.

2.2 Methode und Untersuchungsart

Verwendet habe ich tiefgefrorene Seren des serologischen Labors des gerichtsmedizinischen Instituts aus den Jahren 1974 und 1975. Leichenserum wurden zwar mituntersucht, aber nicht ausgewertet, da sie teils hämolytisch, lipämisch oder bakteriell verunreinigt waren. Aufgetaute Seren wurden jeweils am selben Tag verarbeitet.

Der Nachweis allotypischer Spezifitäten erfolgt mit einem indirekten Verfahren. Indikatorpartikel (hier Erythrozyten), die mit einem Immunglobulin bekannten Allotyps beladen sind (Anti-D mit spezifischer Gm-Antigen-Determinante), können durch einen, gegen den betreffenden Allotyp gerichteten Antikörper agglutiniert werden. Der Test auf den unbekannten Allotyp eines Immunglobulins besteht darin, ob das fragliche Immunglobulin die Fähigkeit besitzt, die homologe Reaktion zu blockieren. Zum besseren Verständnis sei die Reaktion: im Fall der Gm-Bestimmung Hämagglutinations-Hemmtest (Abb. 3 a,b,c,d), im Fall der Anti-Gm-Bestimmung Hämagglutination (Abb. 3 a,b), dargestellt.

Zu Abb. 3a: Dreimal ausgewaschene frische Rh-positive Erythrozyten der Blutgruppe O werden mit Anti D Seren, die jeweils die spezifischen Gm- oder InV-Antigen-Determinanten enthalten, beladen /42/. Dabei ist auf die Menge genau zu achten, um die Erythrozyten-Oberfläche optimal zu besetzen. Nach der Inkubation wird nicht aufgesetztes IgG dreimal ausgewaschen und danach die Erythrozyten in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert.



E=Erythrozyt

Abb. 3 a,b Hämagglutination
Abb. 3 a,b,c,d Hämagglutinations-Hemmtest

Erklärung siehe Text

Zu Abb. 3b: Auf normalen, üblicherweise in der Blutgruppenserologie verwendeten Glasplatten mit Vertiefungen wird nun das zu untersuchende Serum mit dem Indikatorsystem, also Erythrozyten mit IgG bekannten Allotyps, zusammengebracht. Nach erfolgter Reaktion wurde das erste Mal nach einer halben Stunde bei Zimmertemperatur (ca. 20°C) abgelesen. Die zweite Ablesung erfolgte 24 Stunden später, nachdem das Gemisch im Kühlschrank belassen wurde. Agglutination bedeutet das Vorhandensein der spezifischen Anti-Gm- oder Anti-InV-Substanz.

Obwohl zur Bestimmung des Anti-Gm- und Anti-InV nicht notwendig, sei vollständigkeithalber das weitere Vorgehen bei der Bestimmung der Gm-Substanz erwähnt, wie sie Abb. 3c und 3d darstellen.

Zu Abb. 3c: Das zu untersuchende Serum wird mit einer spezifischen Anti-Allotyp-Substanz zusammengebracht. Ist Gm oder InV dieser Spezifität in dem Serum vorhanden, wird ein Antigen-Antikörper-Komplex gebildet, später dazugegebene Erythrozyten können nicht mehr agglutinieren. Das Probandenserum ist Gm- oder InV-positiv für die jeweilige Spezifität.

Zu Abb. 3d: Die Abbildung zeigt den Fall eines Probandenserums, das keine Gm-Hemmsubstanz oder eine solche besitzt, die nicht zu dem spezifischen Antikörper paßt. Anti-Gm wird nicht abgesättigt, die Bindungsstellen bleiben frei, später dazugegebene Erythrozyten können mit Anti-Gm agglutinieren.

Bei dem Verfahren der Gm-Bestimmung dient Versuch 3b als Kontrolle, denn möglicherweise vorhandene Antikörper müssen, wie schon erwähnt, vor der Reaktion beseitigt werden (verdünnt, absorbiert, dia-

lysiert), damit sie die Gm-Bestimmung nicht stören /4/.

Die Anti D Seren mit den entsprechenden Spezifitäten nahm ich von den Firmen Molter, Fresenius und Dade, die für die Kontrollen benötigten Anti-Gm- und Anti-InV-Seren von den entsprechenden Firmen. Innerhalb einer Spezifität wurde während des ganzen Versuchs nur mit Serum ein und derselben Firma gearbeitet.

Alle positiven Seren wurden zunächst in einem Antikörper-Suchverfahren in einer Verdünnung von 1:10 ermittelt. Positive Seren wurden bei Zimmertemperatur und bei 4°C austitriert. Die einzelnen Verdünnungsstufen waren 1:4, 1:16, 1:64, 1:256, 1:1024 und 1:4096. Auch in der Verdünnung 1:4 schwach positive Seren wurden berücksichtigt.

2.3 Ergebnisse und Diskussion

2.3.1 Anzahl der positiven Seren nach Spezifität und Titer

Von den insgesamt 993 untersuchten Seren fand ich 83 positive Anti-Allotyp-Seren. Darunter waren 36, die nur Anti-Allotyp einer Spezifität zeigten, und 47 polyvalente Seren, insgesamt 197 Einzelagglutinationen. Diese Zahl beinhaltet sehr kleine Titer (1:4) bei den monospezifischen Seren, und einige polyvalente Seren, die in allen von mir untersuchten Allotypen eine positive Reaktion zeigten. Eliminiert man diese, fraglich positiven Reaktionen, so ergibt sich die Anzahl von 6,84 % mono- und polyvalente Anti-Allotyp-Seren bei dem vorliegenden Untersuchungsgut. Im Mittel fielen auf ein polyvalentes Serum 3,43 verschiedene Anti-Allotypen. Agglutinationen verteilten sich auf die einzelnen Spezifitäten wie folgt:

Anti Gm(1)	37	
Anti Gm(2)	25	
Anti Gm(4)	27	
Anti Gm(5)	10	
Anti Gm(10)	21	
Anti Gm(21)	28	
InV(1)	49	(siehe Abb. 4)

Auffallend ist zunächst das vermehrte Vorkommen von Anti Gm(1) und Anti InV(1).

Anti Gm(1): Sieht man das Auftreten von Anti-Allotyp-Antikörpern als Reaktion auf einen antigenen Stimulus, so ist der hohe Anteil der Anti Gm(1) Spezifität

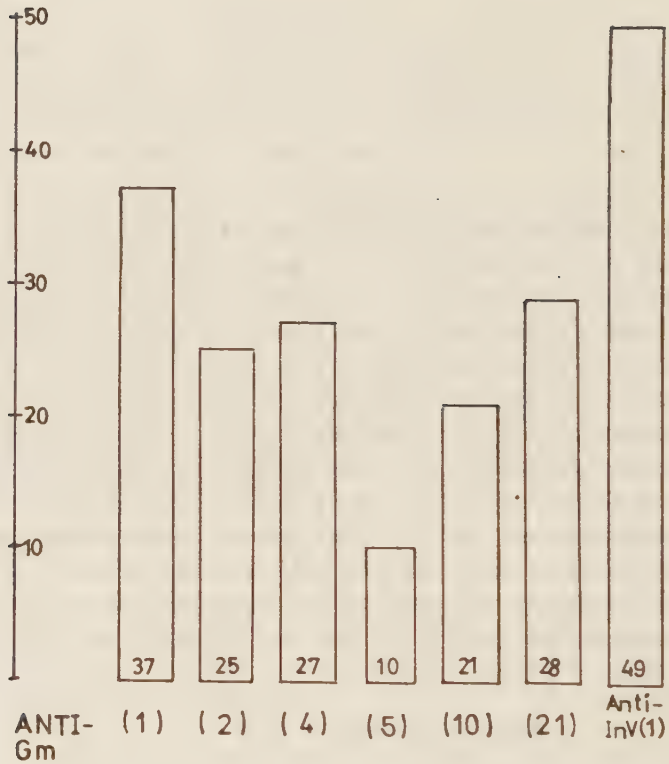


Abb. 4 Häufigkeit der einzelnen Agglutinationen nach den Spezifitäten (mono- und polyvalente Seren)

verständlich. Wie oben erwähnt, gehört die Gm(1) Substanz zur gamma G 1-Fraktion, die ohnehin quantitativ überwiegt. Zusätzlich ist Gm(1) ein potentes Antigen.

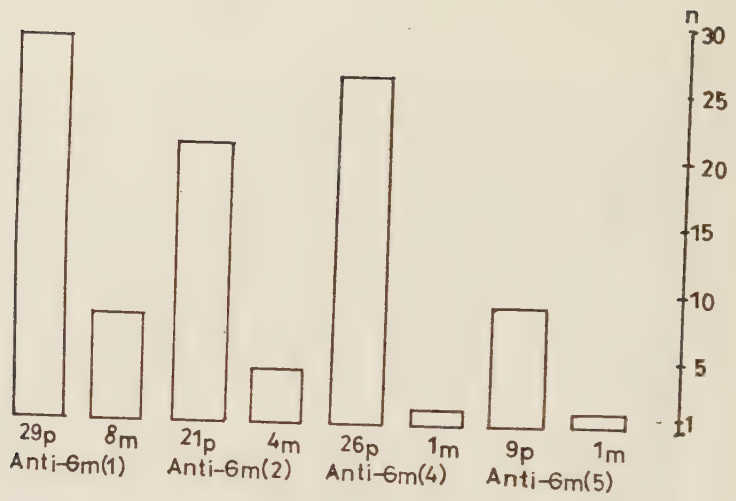
Anti InV(1): Da gerade die InV-Allotypen noch weitgehend unerforscht sind, ist vorstellbar, daß Anti-InV-Antikörper das Produkt mehrerer, noch undifferenzierter InV-Spezifitäten darstellen; zumal InV(1) und InV(2) immer zusammen nachgewiesen wurden und das stoffliche Äquivalent von InV(1) noch unerforscht ist. Von den drei InV-Allotypen, die bisher bekannt sind, steht Leucin auf Position 191 für InV(2), Valin für InV(3), für InV(1) scheint es ebenso Leucin zu sein.

Den 36 monovalenten Seren standen bedeutend mehr polyvalente, d.h. mehrere Anti-Allotypen enthaltende Seren gegenüber. Da ich im folgenden eventuelle Ursachen und mögliche theoretische Erklärungen bringe, seien hier mono- und polyvalente Seren nach den verschiedenen Allotypen gegenübergestellt (s. Abb. 5).

Bei allen Anti-Allotypen überwiegen also die polyvalenten Seren. Im Verhältnis zu allen positiven Seren sind polyvalente Seren wie folgt zu finden:

für Anti Gm(1) in 78 %	
Anti Gm(2)	84 %
Anti Gm(4)	96 %
Anti Gm(5)	90 %
Anti Gm(10)	76 %
Anti Gm(21)	93 %
InV(1)	69 % der Fälle.

Polyvalente Seren wurden in der Literatur meist als Raggs beschrieben.



n=Anzahl der Seren
p=polyvalent
m=monovalent

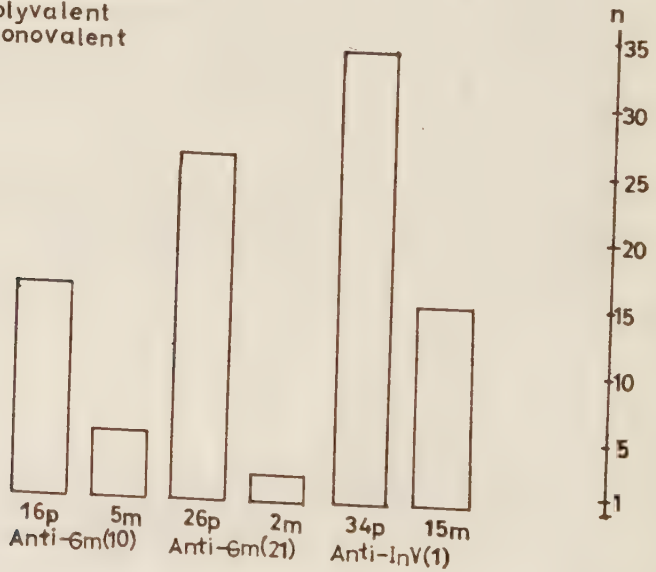


Abb. 5 Vergleich der einzelnen Seren je nach Vorkommen einer oder mehrerer Spezifitäten

2.3.2 Polyvalente Seren

Gm-Antikörper verschiedener Spezifitäten findet man, aus bisher nicht geklärten Gründen, gehäuft bei Rheumatikern (sogenannte Raggs = Rheuma-agglutinierendes Serum). Im Gegensatz dazu werden alle Gm-Antikörper, die bei gesunden Personen vorkommen, als Snagg-Seren (= Serum normal agglutinierend) bezeichnet.

Anti-Gm-Antikörper und Rheumafaktor haben folgende Gemeinsamkeiten: beide kommen häufiger in Rheumatiker-Seren vor, beide gehören der IgM-Fraktion an, wurden aber auch vereinzelt im IgG und IgA nachgewiesen /11/. Beide können nach IgG Injektionen auftreten. So bekamen drei Rh-negative Mütter, die Gammaglobulin transfundiert erhielten, nicht nur Gm-Antikörper, sondern auch einen positiven Latex-Rheumafaktor-Test. Zu dieser Zeit zeigten die Mütter keinen klinischen Anhaltspunkt für eine Erkrankung des rheumatischen Formenkreises. Die weiteren Beziehungen zwischen Gm-Antikörper und Rheumafaktor sind noch unklar /32/.

Bisher sind an Verschiedenheiten bekannt: Alle Anti-Gm positiven Seren ergeben zwar einen positiven Waaler-Rose-Test (spezifischer Rheumafaktornachweis), aber nicht in allen Waaler-Rose positiven Seren waren einer oder mehrere spezifische Anti-Gm-Substanzen nachzuweisen /33/.

In Fällen, in denen Anti-Gm-Antikörper gefunden wurden (nach Transfusionen, Mutter-Kind-Unverträglichkeiten), fand ich nirgends einen Hinweis für das gleichzeitige Auftreten des Rheumafaktors.

Seren, die spezifische Anti-Gm-Merkmale enthalten, können ebenso dieselbe Gm-Spezifität haben. Das gilt für Anti Gm(1) und Anti Gm(5), nicht aber für Anti Gm(2), das im Rheumatikerserum nur dann vorkam, wenn Gm(2) nicht gleichzeitig im Serum nachzuweisen war /33/. Dieselbe Untersuchung brachte das Ergebnis, daß Gm(1) und Gm(5) in Rheumatikerseren ebenso verteilt sind wie bei Normalseren der übrigen Bevölkerung. Gm(2) war aber bei Rheumatikerseren mit positivem Waaler-Rose-Test viel häufiger nachzuweisen als bei der entsprechenden Kontrollgruppe.

Im Gegensatz zu Anti Gm(1) scheint Anti Gm(4) selten in Rheumatikerseren vorzukommen /15/.

Da mir weder Krankengeschichten der einzelnen Probanden vorlagen, noch Untersuchungen auf Krankheiten des rheumatischen Formenkreises bei denselben Seren angestellt wurden, kann ich keine Aussage über deren Beziehung zu Anti-Allotypen machen.

Bei einigen Seren war der Gm-Allotyp bekannt: von 13 Seren, die Anti Gm(1) enthielten, hatten 4 zugleich Gm(1).

Von 4 Seren, die Anti Gm(2) enthielten, hatte 1 zugleich Gm(2).

Weiter untersuchte ich die 47 polyvalenten Seren danach, ob Kombinationen bestimmter Anti-Allotypen besonders häufig vorkommen (s. Abb. 6).

n	Anti Gm(1)	Anti Gm(2)	Anti Gm(4)	Anti Gm(5)	Anti Gm(10)	Anti Gm(21)	Anti InV(1)
1	x	x	x	x	-	-	-
3	-	-	-	-	-	x	x
2	x	-	x	-	-	-	-
1	x	x	x	-	-	-	-
2	-	-	x	-	x	x	x
1	-	-	x	-	-	-	x
2	-	x	x	-	x	x	x
2	-	-	-	-	x	x	x
2	x	x	x	-	-	-	x
1	x	-	x	-	-	-	x
2	x	x	x	-	x	x	x
3	x	x	x	x	x	x	x
1	-	-	-	x	x	x	x
1	x	x	x	-	-	x	x
3	x	-	-	-	-	-	x
1	x	x	-	-	-	x	x
4	x	x	-	-	-	x	-
1	-	-	x	x	x	-	x
1	-	x	x	-	-	-	x
1	-	-	x	-	x	-	x
2	x	-	-	-	-	x	-
1	x	-	x	x	x	-	x
2	-	-	-	x	-	-	x
1	x	-	x	-	x	x	x
1	x	x	-	-	-	x	-
1	-	-	x	-	-	x	-
2	x	-	x	-	-	-	x
1	-	x	-	-	-	-	x
1	x	x	-	-	-	-	-

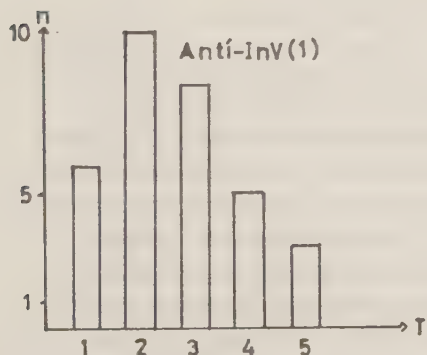
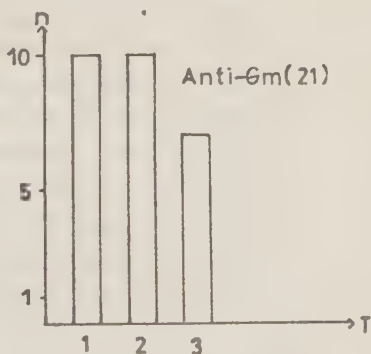
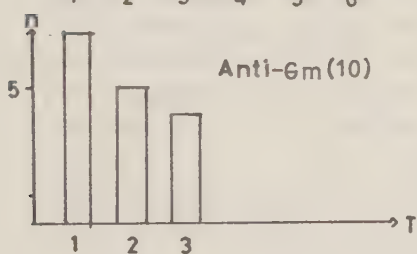
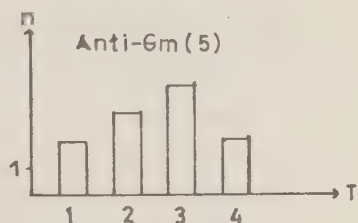
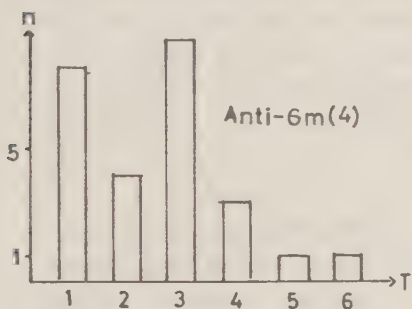
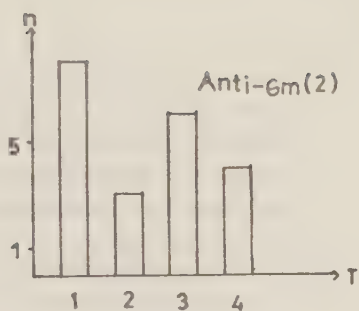
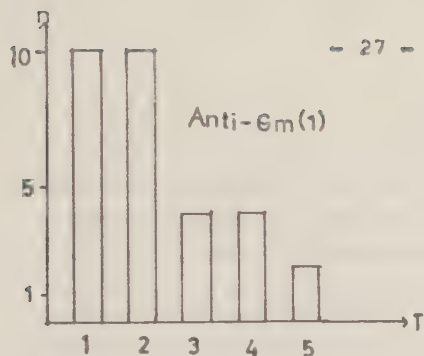
Abb. 6 Häufigkeit (n) bestimmter Anti-Allotyp-Kombinationen (x) bei 47 polyvalenten Seren

Die verschiedenen Anti-Allotyp-Muster treten in etwa gleich häufiger Verteilung auf. Auffallend ist, daß Anti Gm(5) und Anti Gm(21) von insgesamt 27 positiven Seren nur viermal zusammen in einer Kombination auftreten. Eine eventuelle antithetische Beziehung zwischen Gm(5) und Gm(21) ist nach antigenem Stimulus auch für die Anti-Allotypen vorstellbar. Drei der vier Seren (in Abb. 6 mit einem * gekennzeichnet), die gegen diese Annahme sprechen, zeigten Agglutinationen in allen von mir untersuchten Allotypen. Eine unspezifische Reaktion ist deshalb wahrscheinlich.

Bei der Auftragung der polyvalenten Seren in Abhängigkeit von den Titern (Abb. 7) fand ich nur ein Serum, das bis zur Verdünnungsstufe von 1:4096 noch agglutinierte. Dieses hochtitrige Serum gehört zum Anti-Allotyp Gm(4), das, verglichen an der Gesamtzahl, etliche hohe Titer aufwies.

Anti InV(1) und Anti Gm(5) zeigten in den höheren Titerstufen mehrere positive Reaktionen als in der Verdünnungsstufe 1:4. Ausschlaggebend dafür sind einige Seren mit einem Zonenphänomen, auf das ich später noch zu sprechen komme.

Auffallend waren relativ niedrige Titer für die Anti-Allotypen Gm(10) und (21).



n=ANZAHL DER SEREN

T=TITER

1=1: 4

2=1: 16

3=1: 64

4=1: 256

5=1: 1024

6=1: 4096

Abb. 7 Auftragung der polyvalenten Seren nach Maximaltitern (Kälte- und Wärmeagglutinationen)

2.3.3 Monovalente Seren

Den 47 polyvalenten Seren standen 36 monovalente gegenüber. Für monovalente Anti-Allotyp-Seren wurden bisher zwei verschiedene Ursachen beschrieben:

1. Seren, die anamnestisch nicht in die Gruppe der Raggs einzureihen waren, also Probanden, die keine Anzeichen von rheumatischer Arthritis hatten. Wie oben beschrieben, bezeichnet man sie als Snaggs. Snaggs finden oft Verwendung bei der Bestimmung spezifischer Gm-Substanzen, wobei man den niedrigen Titer in Kauf nimmt, um den Vorteil der Monospezifität zu haben.
2. Seren polytransfundierter Personen. Wie Raggs haben diese Seren einen hohen Titer, stehen also bezüglich der Anzahl der kombinierten Allotypen in der Mitte zwischen Raggs und Snaggs. Eine Untersuchung von Vierucci über Kinder mit Cooley's Anämie (Thalasämie) ergab in 29 von 73 Fällen Gm-Antikörper. Im Rahmen ihrer Therapie hatten alle Kinder mehrere Bluttransfusionen erhalten/41/.

Allen & Kunkel berichteten in einer späteren Veröffentlichung von 71 % Anti-Gm-Aktivität bei polytransfundierten Kindern /2/.

Das Auftreten oder der Titeranstieg von Anti-Allotyp-Antikörpern warf die Frage nach eventuellen Unverträglichkeits-Reaktionen nach Transfusionen auf. Sie ist bis heute unbeantwortet. Eine immunologische Reaktion ist denkbar, allerdings wird in der Literatur von nur einem Fall einer Unverträglichkeit berichtet /3/. Grubb /19/ hat den Anti-Allotypen noch einen geringen Krankheitswert beigemessen. Heute schließt man aber nicht mehr aus, daß sie für Transfusionszwischenfälle mitverantwortlich sein können.

Abb. 8 zeigt die maximal erreichten Titerstufen der monovalenten Seren. Von den insgesamt 36 Seren, die nur in einer der von mir untersuchten Spezifitäten agglutinierten, ist die Monospezifität ja nicht bewiesen, denn es wurden nur ein paar der bisher bekannten Allotypen getestet. Trotzdem wiesen sie größtenteils die für monovalente Seren (Snaggs) typische Eigenschaft auf: niedrige Titer waren häufiger zu finden als bei polyvalenten Seren. Kein "monospezifisches" Serum erreichte eine höhere Titerstufe als 1:256.

Auf die einzelnen Spezifitäten verteilten sich die Anti-Allotypen wie folgt:

Anti-Allotypen	Anzahl der Seren
Anti Gm(1)	8
Anti Gm(2)	4
Anti Gm(4)	1
Anti Gm(5)	1
Anti Gm(10)	5
Anti Gm(21)	2
Anti InV(1)	15

Seren mit niedrigem Titer, die zusätzlich monospezifisch sind (wie schon erwähnt, Snaggs genannt), haben normalerweise keine Prozonen /2, 9, 28, 41/.

Gerade das Prozonenphänomen aber kommt bei meinen Anti-Allotyp-Seren einer Spezifität viel häufiger vor als bei den polyvalenten Seren (80 %). Wie aus der Abb. 7 zu ersehen ist, sind nur bei den Anti Gm(5) und Anti InV(1) Allotypen in der Verdünnungsstufe 1:16 mehr Seren zu finden als in der Verdünnungsstufe 1:4, während bei den monospezifischen Seren (Abb. 8) außer für Anti Gm(10) gleich viele oder mehrere Seren in der Verdünnung 1:16 positiv sind als in der niedrigsten Verdünnungsstufe.

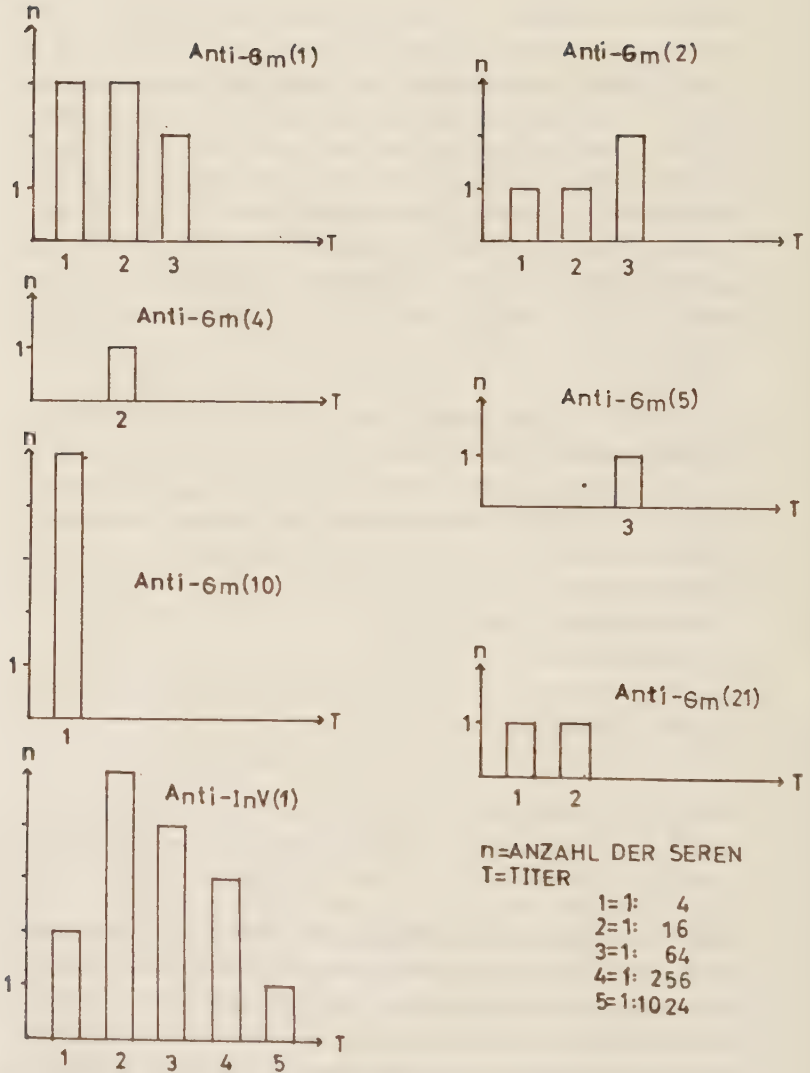


Abb. 8 Auftragung der monovalenten Seren nach Maximaltitern (Kälte- und Wärmeagglutinationen)

2.3.4 Mutter-Kind-Unverträglichkeiten

Die Immuntoleranz, die normalerweise zu beobachten ist, wenn man nur früh genug mit dem Antigen in Berührung kommt, wurde für InV und Gm nicht beobachtet. Mehrere Arten der Unverträglichkeit kommen vor /31, 38/.

Da ab zweiter Hälfte der Schwangerschaft IgG plazentagängig ist, kann sowohl die Mutter als auch das Kind Antikörper gegen dieses IgG, speziell gegen einen unterschiedlichen Allotyp bilden.

Im Fall eines allo genetisch festgelegten Unterschieds zwischen Mutter und Kind können Anti-Allotyp-Antikörper beobachtet werden:

- a) Mutter, die eine Gm-Substanz besitzt, immunisiert ihr Kind aktiv, das dann seinerseits mit Antikörperbildung (Anti-Allotyp-Antikörper) antworten kann. Dieser Fall stellt einen entgegengesetzten Immunisierungstyp wie beim Rhesussystem dar und wurde nach den Entdeckern das Steinberg-Speiser-Phänomen genannt. Festgestellt wurde, daß 70 % aller Kinder gegen Determinanten des mütterlichen Immunglobulins Antikörper bilden, wenn sie die entsprechenden Determinanten nicht selbst besitzen /31/.
- b) Der für das Kind folgenreichere Fall ist die aktive Immunisierung der Mutter durch kindliches Gm, das sie selbst nicht besitzt. Bei 1,59 % aller Schwangeren, die negativ für die entsprechende Spezifität waren, wurde der Anti-Allotyp entdeckt. Davon verteilte sich auf Anti Gm(1) 75 %, auf Anti Gm(4) 7 % und auf Anti Gm(5) 18 % /9, 10, 28/.

Wie oben erwähnt, sind Anti-Gm-Antikörper meist IgM, also Makroglobuline, und deshalb nicht plazentagängig. Jedoch können unter Umständen die von der Mutter gebildeten Anti-Gm-Antikörper zur Ausbildung einer Hypogammaglobulinämie führen /7, 9, 10/. Dieses Ergebnis steht nicht im Zusammenhang mit der Tatsache, daß Neugeborene einen stark korrelierenden Immunglobulinspiegel zu dem ihrer Mutter haben, d.h. fehlt ein ausreichender Gammaglobulinspiegel bei der Mutter, so kann, Verträglichkeit vorausgesetzt, sich der Gm-Phänotyp des Kindes nicht unmittelbar manifestieren, eine Hypergammaglobulinämie hingegen verstärkt die Hemmfähigkeit eines Gm-positiven Individuums /9/.

Bei einigen meiner untersuchten Anti-Allotyp-Seren waren ebenso die Gm-positiven und InV-positiven Merkmale des Kindes wie der Mutter bekannt. Beide Typen einer fraglichen gegenseitigen Immunisierung fand ich:

1. Fälle, bei denen Kinder gegen mütterliches Gm Anti-körper gebildet haben können.

	Mutter	Kind
a) Allotypen	Gm(1),(2) InV(1)	Gm(1)
Anti-Allotypen	--	Anti Gm(2)
b) Allotypen	Gm(1),InV(1)	--
Anti-Allotypen	--	Anti Gm(1), (2), (21)

2. Fälle, bei denen Mütter gegen kindliche Allotypen Antikörper gebildet haben können

a) Allotypen	Gm(1), (2), InV(1)	Gm(1), InV(1)
Anti-Allotypen	Anti Gm(1), (4),InV(1)	--
b) Allotypen	--	InV(1)
Anti-Allotypen	Anti InV(1)	Anti Gm(4), (10) (21), InV(1)

2.3.5 Erläuterung zur Reaktionstemperatur

Im Gegensatz zu den im ABO-System vorkommenden natürlichen Antikörpern, den Isoagglutininen, bezeichnet man alle übrigen Antikörper als irregulär. Ihr Nachweis hängt innerhalb weiter Grenzen von der Empfindlichkeit und Spezifität der angewendeten Untersuchungsmethode ab. Hinsichtlich des Reaktionsoptimums in verschiedenen Temperaturbereichen können irreguläre Antikörper in drei Gruppen eingeteilt werden:

1. Kälteagglutinine

Ihr Reaktionsoptimum liegt bei $0 - 4^{\circ}\text{C}$. Sie agglutinieren Zellen in physiologischer Kochsalzlösung besser als solche in Albumin. In der Ultrazentrifuge sedimentieren sie als Makroglobuline mit einer Sedimentationskonstante von 19 S (Svedberg-Einheiten).

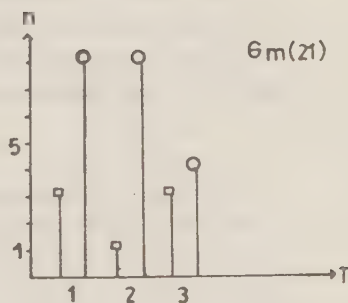
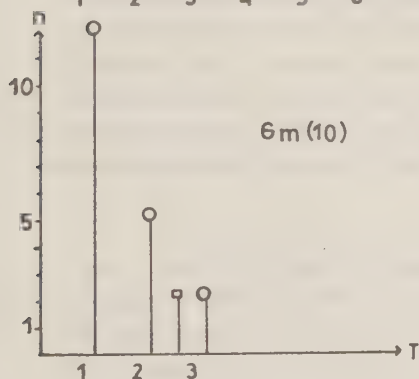
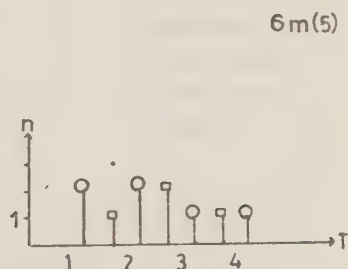
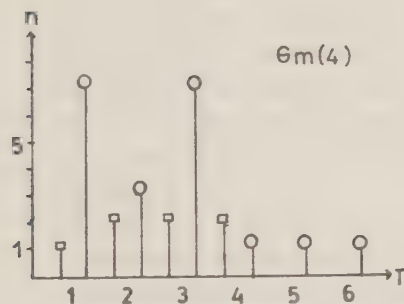
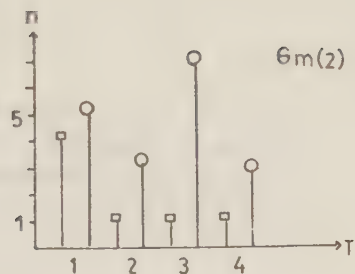
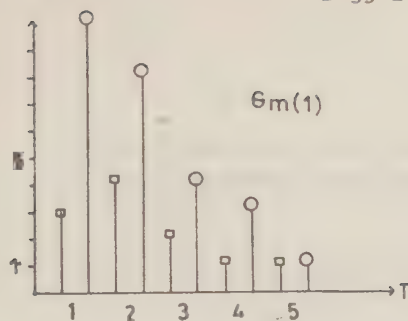
2. Kälteagglutinine, die jedoch mit zunehmendem Titeranstieg auch ihr Reaktionsoptimum bei höheren Temperaturen zeigen.

3. Wärmeagglutinine

Ihre optimale Reaktionstemperatur liegt bei 37°C . Sie agglutinieren Zellen, die in Albumin suspendiert sind sowie enzymbehandelte Zellen.

Für die Zugehörigkeit der Anti-Allotypen zu einer der obengenannten Klassen ergab sich aus meinen Untersuchungen kein Anhalt. Eine einheitliche Reaktion der Seren oder auch einzelner Spezifitäten war hinsichtlich der beiden Temperaturbereiche nicht festzustellen. Berücksichtigt werden muß dabei, daß die Wärmeagglutination nicht bei 37°C und nicht im konglutinierenden System getestet wurde. Teils aus der Literatur, teils den eigenen Versuchen entnommen, seien Gründe genannt, die die Anti-Allotypen den oben genannten Klassen zuordnen lassen:

- Zu 1) - Die meisten Anti-Allotypen gehören der IgM Klasse an /8, 27/;
- Nach Prokop haben sie dasselbe Temperatur-optimum wie andere Spontan-Antikörper, die als gewöhnliche Iso-Antikörper den Kälteagglutinen angehören, also bei 4°C /34/;
 - Anti Gm-Allotypen kommen bei Kindern häufiger vor als bei Erwachsenen. Deshalb stehen sie in Analogie zu den übrigen irregulären Spontan-Antikörpern /12/;
 - Die Diagramme der Abb. 9 zeigen, daß es mit wenigen Ausnahmen quantitativ innerhalb jeder Titerstufe und auch jeder Spezifität mehr Seren gibt, die bei 4°C agglutinieren. Allerdings verwischt sich das Verhältnis Kälte- zu Wärme-agglutination bei höheren Titern etwas.
- Zu 2) - Ursache für den letztgenannten Befund könnte die erstmals von Mino (1924) aufgestellte Theorie von der positiven Korrelation zwischen Titer und Temperaturoptimum sein.
- Zu 3) - Die Untersuchung von Stichnoth & Sander, wonach Gm Antikörper vermehrt nachgewiesen wurden bei pockenschutzgeimpften Kindern /37/.
- der Nachweis von inkompletten Auto-Antikörpern bei rheumatischen Infektionen (Isoagglutinine waren früher klassische Spontan-Antikörper und werden heute immer mehr als Immun-Antikörper gedeutet);
 - das Zonenphänomen, das als Zeichen der Immun-Antikörper allgemein anerkannt wird /33/.



T 1= 1: 4
 2= 1: 16
 3= 1: 64
 4= 1: 256
 5= 1:1024
 6= 1:4096

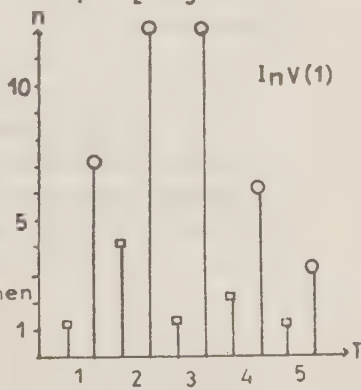


Abb. 9 Titer der einzelnen Anti-
 Allotyp-Spezifitäten nach
 Wärme- und Kälteagglutinationen
 ($\square$ und $\circ$)

Bei den von mir untersuchten Seren fand ich 17, die Prozonen aufwiesen. Mono- sowie polyvalente Seren zeigten dieses Phänomen:

Anti-Allotypen	Prozonen	
	monovalent	polyvalent
Anti Gm(1)	2	1
Anti Gm(2)	-	-
Anti Gm(4)	1	1
Anti Gm(5)	-	1
Anti Gm(10)	-	1
Anti Gm(21)	-	1
Anti InV(1)	9	-

In Abb. 9 sind die Maximaltiter der Seren in Bezug auf die Spezifität und das Temperaturoptimum aufgetragen. Dazu sei erwähnt, daß das Serum unter der eingetragenen Temperatur einen Maximaltiter hatte, was nicht ausschließt, daß z.B. ein in der Titerstufe 1:64 positives Serum in der Kälte auch in einer niedrigeren Verdünnungsstufe, z.B. 1:16 bei Zimmertemperatur agglutinierte.

Alle Seren mit Prozonen waren in der Verdünnung 1:4 negativ und meist nur in der Kälte bei Verdünnung 1:16 positiv. Höhere Titer als 1:16 fand ich nur in einem Fall eines Serums, das bis zur Verdünnung 1:64 positiv war.

12 von 17 Prozonenphänomenen, die ich fand, stammten von monovalenten Seren. Zwei der polyvalenten Seren zeigten Agglutination in allen von mir untersuchten Allotypen, sind also wahrscheinlich unspezifisch, so daß sich für die Prozonen ein Anteil von 80 % monospezifischer Seren ergibt.

3 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit untersucht das Vorkommen von Anti-Allotypen der Gruppen Gm(1), Gm(2), Gm(4), Gm(5), Gm(10), Gm(21) und InV(1).

Von 993 untersuchten Seren waren 83 positiv. 36 Seren wiesen nur einen der untersuchten Anti-Allotypen auf, 47 waren polyvalent. Seren, die mehrere Anti-Allotypen enthielten, zeigten höhere Titer als Seren mit nur einer Spezifität.

Anti Gm(1) und Anti InV(1) wurden am häufigsten gefunden.

Polyvalente Seren, die auf bestimmte Kombinationen untersucht wurden, zeigten kein gehäuftes Auftreten gemeinsam vorkommender Spezifitäten.

Von 27 Seren, die für Anti Gm(5) und Anti Gm(1) positiv waren, fand ich nur 4 Seren, bei denen beide Anti-Allotypen gemeinsam in einer Kombination vorkamen.

Vier Anti-Allotyp-Antikörper wurden gefunden, für die eine Mutter-Kind-Unverträglichkeit wahrscheinliche Ursache ist.

Das Reaktionsoptimum hinsichtlich der Agglutinationstemperatur lag bei den meisten Spezifitäten und Titerstufen bei 4°C.

Zwölf der 17 beobachteten Prozonophänomene kamen bei Seren vor, die nur einen der von mir untersuchten Anti-Allotypen besaßen.

Summary

Gm and InV allotypes were determined in sera of 993 people. 83 sera were positive in either one or more of the following anti allotypes: Gm(1), Gm(2), Gm(4), Gm(5), Gm(10), Gm(21) and InV(1).

36 sera showed anti allotype activity only in one of the specificities, 47 were positive for more than one. Sera containing more than one anti allotype showed higher concentrations than sera with only one specificity.

Anti Gm(1) and anti InV(1) were found most frequently.

Among polyvalent sera there was no significant difference related to a certain combination of anti allotypes.

27 sera positive in anti Gm(5) and anti Gm(21) were found. Only 4 of them had both anti allotypes combined.

Furthermore, four anti allotype antibodies were detected, probably resulting from a maternal-fetal incompatibility.

For all specificities and titers the best agglutination temperature was 4°C.

From 17 prozone phenomena I detected, twelve came from sera which were positive in only one of the specificities I investigated.

Literatur

- /1/ Alepa, F.P., Steinberg, A.G.: The production of anti-Gm reagents by rhesus monkeys immunized with pooled human gamma globuline. Vox Sang. 9, 333 (1964)
- /2/ Allen, J.C., Kunkel, H.G.: Antibodies to genetic types of gamma globuline after multiple transfusions. Science 139, 418 (1963)
- /3/ Allen, J.C., Kunkel, H.G.: Antibodies against gamma globuline after repeated blood transfusions in men. J.clin.Invest. 45, 29 (1966)
- /4/ Borel, H., Pryce, S., Allen, F.H.: Gm typing with microtiter plates. Vox.Sang 19, 319 (1967)
- /5/ Brandtzaeg, B., Fudenberg, H., Mohr, J.: On the genetics of Gm serum system. Acta gent. 11, 111 (1961)
- /6/ Cohen, S., Milstein, C.: Structure of antibody molecules. Nature 214, 449 (1967)
- /7/ Dray, S.: Effect of maternal iso antibodies on the quantitative expressions of two allelic genes controlling gamma globulin allotypic specification. Nature 195, 677 (1962)
- /8/ Fudenberg, H.H., Kunkel, H.G.: Brief report: anti Gm molecules with distinctly different physico-chemical properties. Acta path. Microbiol.Scand. 56, 353 (1962)
- /9/ Fudenberg, H.H., Fudenberg, B.R.: Antibody to hereditary human gamma globulin (Gm factor) resulting from maternal-fetal incompatibility. Science 145, 170 (1964)
- /10/ Fudenberg, H.H.: Gm factor feto-maternal gamma globulin incompatibility. Pediatric Res. 5, 2 (1971)

- /11/ Fudenberg, H.H., Kunkel, H.G.: Specificity of the reactions between rheumatoid factor and gamma globulin. *J.exp.Med.* 114, 257 (1961)
- /12/ Fünfhausen, W., Schneeweiß, R.: Über die Häufigkeit von Anti Gm in verschiedenen Lebensaltern. *Z.ärztl.Fortb.* 57, 123 (1962)
- /13/ Giblett, E.R.: Genetic markers in human blood. (1975)
- /14/ Göhler, Hunger: Gm-Frequenz und Verwertbarkeit in Paternitätsgutachten. *Dtsch.Z.gerichtl.Med.* 53, 122 (1963)
- /15/ Gold, E.R., Martenson, C., Ropartz, C., Rivat, L., Rousseau, R.Y.: Gm(f) - a determinant of human gamma globulin (1965)
- /16/ Grey, H.M., Kunkel, H.G.: Heavy chain subclasses of human gamma G globulin. Peptid and immunochemical relationships. *Biochem.* 6, 2326 (1967)
- /17/ Grubb, R.: Agglutination of erythrocytes coated with 'incomplete' anti-Rh by certain rheumatoid arthritic sera and some other sera. The existence of human serum groups. *Acta path. microbiol. Scand.* 39, 105 (1956)
- /18/ Grubb, R., Laurel, A.B.: Hereditary serological human serum groups. *Acta path. microbiol. Scand.* 39, 390 (1956)
- /19/ Grubb, R.: The Gm groups and their relation to rheumatoid arthritis serology. *Arthr. Rheum.* 4, 195 (1961)
- /20/ Harboe, M., Lundeville, J.: The application of the Gm system in paternity cases. *Vox sang (Basel)* 6, 257 (1961)
- /21/ Harboe, M., Osterland, Manlik, Kunkel, H.G.: Genetic characters of human gamma globulins in myeloma protein. *J.exp.Med.* 116, 719 (1962)

- /22/ Hess, M., Bütler, R.: Anti Gm specificities in sera of rhesus monkeys immunized with human gamma globulin. *Vox sang* 7, 93 (1962)
- /23/ Kunkel, H.G., Allen, J.C., Grey, H.M., Martenson, L., Grubb, R.: A relationship between the H chain groups of γ s gamma globulin and the Gm system. *Nature* 203, 413 (1964)
- /24/ Kunkel, H.G., Grey, H.M., Solomon, A.: Antigenic variations among myeloma proteins and antibodies. Fourth Intern. Symp. on Immunopathology, 220, Schwabe, Basel (1966)
- /25/ Lawler, S.D.: A genetical study of the Gm groups in human serum. *Immunology* 3, 90 (1960)
- /26/ Lawler, S.D., Cohen, S.: Distribution of allotypic specificities on the peptid chains of human gamma globulin. *Immunology* 8, 206 (1965)
- /27/ Martensson, L.: Distribution of Gm specificities among the gamma globulin molecules. *Acta path. microbiol. Scand.* 54, 343 (1962)
- /28/ Martensson, L., Fudenberg, H.H.: Gm genes and gamma G synthesis in the human fetus. *J. Immun.* 94, 514 (1965)
- /29/ Martensson, L., Kunkel, H.G.: Distribution among the gamma globulin molecules of different genetically determined antigenic specificities in the Gm system. *J.exp.Med.* 122, 799 (1965)
- /30/ Natvig, J.B., Kunkel, H.G.: Genetic markers of human immunoglobulins. The Gm and InV system. *Series haematologica* I., I, 66 (1968)
- /31/ Nathenson, G., Scherr, J.B., Litvin, S.D.: Gm factor feto-maternal gamma globulin incompatibility. *Ped.Res.* 5, 2 (1971)
- /32/ Nathenson, G.: Development of the Gm antibodies following injection of anti Rh gamma globulin. *Transfusion* 11, 302 (1971)

- /33/ Podliachouk, Jaqueline, Eyquem: The serum factor (GmA, GmB, GmX and Gm like) in patients with chronic rheumatoid affections (1962)
- /34/ Prokop, O.: Untersuchungen über die T-Amplitude von Gm-Seren. Immunitätsforsch. 122, 2 (1961)
- /35/ Prokop, O.: Die menschlichen Blut- und Serumgruppen. VEB Fischer, Jena (1966)
- /36/ Ropartz, C., Lenoir, J., Rivat, L.: A new inheritable property of human sera. The InV factor. Nature 189, 586 (1961)
- /37/ Sander, Stichnoth: Über das Vorkommen von Gm Antikörpern bei Kindern nach Pockenschutzimpfung. Z.gerichtl.Med. 54 (1963)
- /38/ Steinberg, A.G., Wilson, J.A.: Hereditary globulin factors and immune tolerance in men. Science 140, 303 (1963)
- /39/ Steinberg, A.G., Giles, B.D., Stauffer, R.: A Gm like factor present in Negroes and rare or absent in Whites. Its relation to GmA and GmX. Ann.J.Hum.Gen. 3, 90 (1960)
- /40/ van Loghem, E., Martensson, L.: Genetic Gm determinants of the (vi) subclass of human IgG immunoglobulins. Vox sang 13, 369 (1967)
- /41/ Vierucci, A.: Gm groups and anti Gm antibodies in children with cooley's anemia. Vox sang 10, 82 (1965)
- /42/ Waller, N.V., Vaughan, J.H.: Use of anti Rh serum for demonstrating agglutination activating factors in rheumatoid arthritis. Proc. Soc.exp.Biol. 92, 168 (1956)
- /43/ Wilson, J.A., Steinberg, A.G.: Antibodies of gamma globulin in the serum of children and adults. Transfusion 5, 565 (1965)

Zum Abschluß möchte ich nicht versäumen, Herrn Prof. Dr. Jungwirth für die Überlassung des Themas, die zahlreichen Anregungen sowie die Übernahme des Referats zu danken.

Für die hilfreiche Unterstützung bei der experimentellen Durchführung und die großzügigen Arbeitsmöglichkeiten danke ich allen Mitarbeitern des serologischen Labors.

Lebenslauf

Am 5. Mai 1948 wurde ich als zweite Tochter der Eheleute Walter und Emilie Gerheiser in Feldkirchen bei München geboren. Hier wuchs ich auf und besuchte die Volksschule.

1959 trat ich in das Max-Josef-Stift ein, wo ich auch nach neun Jahren das Abitur ablegte. Wegen meines Interesses an Medizin wählte ich eine Ausbildung als medizinisch-technische Assistentin. Das MTA-Examen bestand ich 1972 am Max von Pettenkofer-Institut in München. Die Praktikantenzeit leistete ich in dem Labor Dr. Zeitlmann ab, wo ich vorwiegend serologisch arbeitete. Als examinierte MTA war ich dann am Max-Planck-Institut für Verhaltensphysiologie in See-wiesen tätig.

Nachdem ich mich entschlossen hatte, Medizin zu studieren, überbrückte ich die Zeit bis zur Zulassung mit drei Semestern Jura, um bereits rechtsmedizinische Vorlesungen hören zu können.

Im Wintersemester 1973/74 begann ich mit dem Medizinstudium, legte nach vier Semestern die Ärztliche Vorprüfung und nach weiteren zwei Semestern den ersten Teil des Staatsexamens ab; Ärztliche Prüfung am 12.11.1979

Aufgrund meines besonderen Interesses an diesem Fachgebiet nahm ich im April 1976 die Möglichkeit einer Dissertation am Institut für Rechtsmedizin wahr.

